

# Рождение здорового ребенка в программе вспомогательных репродуктивных технологий после аутологичного сокультивирования эмбриона с клетками кумулюса и новой технологии переноса САТ. Клинический случай

Г.Р. Асфарова, В.Ю. Смольникова, Н.П. Макарова, Ю.С. Драпкина<sup>✉</sup>, А.П. Сысоева, Н.Н. Лобанова, Е.А. Калинина

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова» Минздрава России, Москва, Россия

## Аннотация

Кумулюсные клетки имеют важное значение во время роста и развития ооцитов, а также в процессе их созревания и оплодотворения. Результаты исследований показали, что сокультивирование эмбриона с аутологичными клетками кумулюса повышает частоту формирования бластоцист, а также улучшает эффективность программ вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ). Перенос эмбриона в таких программах рекомендовано осуществлять с помощью технологии САТ (Cumulus-Aided embryo Transfer), включающей в себя культивирование эмбриона на слое кумулюсных клеток и проведение переноса эмбриона с некоторым количеством разреженных клеток кумулюса. В отделение обратилась пациентка Г., 38 лет, с жалобами на отсутствие наступления беременности в течение 15 лет и несколькими неудачными попытками ВРТ в анамнезе. Пациентке была проведена программа ВРТ с использованием аутологичного сокультивирования эмбрионов с клетками кумулюса и новой технологии переноса САТ. У пациентки наступила беременность, закончившаяся своевременными оперативными родами. На момент написания публикации ребенок соматически здоров, развивается соответственно возрасту. Использование аутологичных клеток кумулюса в качестве источника биологически активных веществ способствует улучшению эмбриологического этапа, а также повышает частоту имплантации в программах ВРТ. Сокультивирование эмбриона с кумулюсными клетками особенно актуально пациентам с несколькими неудачными попытками ВРТ в анамнезе. Данная методика может стать достойной альтернативой для оптимизации системы культивирования эмбрионов человека в программах ВРТ.

**Ключевые слова:** вспомогательные репродуктивные технологии, клетки кумулюса, технология САТ, сокультивирование, ростовые факторы, эмбрион, ооцит, имплантация эмбриона, неудачные попытки вспомогательных репродуктивных технологий

**Для цитирования:** Асфарова Г.Р., Смольникова В.Ю., Макарова Н.П., Драпкина Ю.С., Сысоева А.П., Лобанова Н.Н., Калинина Е.А. Рождение здорового ребенка в программе вспомогательных репродуктивных технологий после аутологичного сокультивирования эмбриона с клетками кумулюса и новой технологии переноса САТ. Клинический случай. Гинекология. 2021; 23 (3): 270–274. DOI: 10.26442/20795696.2021.3.200876

## CASE REPORT

# The birth of a healthy child in the assisted reproductive technologies program after autologous co-culture of embryo with cumulus cells and a new CAT transfer technology. Case report

Gunai R. Asfarova, Veronika Iu. Smol'nikova, Natalia P. Makarova, Iuliia S. Drapkina<sup>✉</sup>, Anastasiia P. Sysoeva, Nataliia N. Lobanova, Elena A. Kalinina

Kulakov National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology, Moscow, Russia

## Abstract

Cumulus cells are essential during oocytes growth and development, as well as during their maturation and fertilization. Research results have shown that embryo co-cultivation with autologous cumulus cells increases the frequency of blastocyst formation, and also improves the effectiveness of ART programs. Embryo transfer in such programs is recommended to be carried out using the CAT technology (Cumulus-Aided embryo Transfer), which includes embryo cultivation on a layer of cumulus cells

## Информация об авторах / Information about the authors

<sup>✉</sup> **Драпкина Юлия Сергеевна** – канд. мед. наук, науч. сотр. отд-ния вспомогательных технологий в лечении бесплодия им. проф. Б.В. Леонова ФГБУ «НМИЦ АГП им. акад. В.И. Кулакова». E-mail: yu\_drapkina@oparina4.ru; ORCID: 0000-0002-0545-1607

**Асфарова Гунай Раисовна** – аспирант отд-ния вспомогательных технологий в лечении бесплодия им. проф. Б.В. Леонова ФГБУ «НМИЦ АГП им. акад. В.И. Кулакова». E-mail: asfarovag@gmail.com; ORCID: 0000-0002-4653-1371

**Смольникова Вероника Юрьевна** – д-р мед. наук, вед. науч. сотр. отд-ния вспомогательных технологий в лечении бесплодия им. проф. Б.В. Леонова ФГБУ «НМИЦ АГП им. акад. В.И. Кулакова». E-mail: v\_smolnikova@oparina4.ru; ORCID: 0000-0002-8025-4849

<sup>✉</sup> **Iuliia S. Drapkina** – Cand. Sci. (Med.), Kulakov National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology. E-mail: yu\_drapkina@oparina4.ru; ORCID: 0000-0002-0545-1607

**Gunai R. Asfarova** – Graduate Student, Kulakov National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology. E-mail: asfarovag@gmail.com; ORCID: 0000-0002-4653-1371

**Veronika Iu. Smol'nikova** – D. Sci. (Med.), Kulakov National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology. E-mail: v\_smolnikova@oparina4.ru; ORCID: 0000-0002-8025-4849

and embryo transfer with a certain amount of diluted cumulus cells. Patient G., 38 years old, came to the department with infertility for 15 years and recurrent implantation failure in history. The patient had ART program with autologous co-cultivation of embryos with cumulus cells and a new CAT transfer technology. The patient fell pregnant and gave birth to a healthy child. Autologous cumulus cells can be a source of biologically active substances and improve embryological parameters and implantation rate in ART programs. Embryo co-cultivation with cumulus cells is especially important for patients with recurrent implantation failure. This technique can become an alternative for optimizing human embryos culturing.

**Keywords:** assisted reproductive technologies, cumulus cells, CAT technology, co-cultivation, growth factors, embryo, oocyte, embryo implantation, recurrent implantation failure

**For citation:** Asfarova GR, Smol'nikova Vlu, Makarova NP, Drapkina IuS, Sysoeva AP, Lobanova NN, Kalinina EA. The birth of a healthy child in the assisted reproductive technologies program after autologous co-culture of embryo with cumulus cells and a new CAT transfer technology. Case report. Gynecology. 2021; 23 (3): 270–274. DOI: 10.26442/20795696.2021.3.200876

## Актуальность

Ведущая причина неэффективности лечения бесплодия в программах вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ) заключается в нарушениях имплантации эмбриона [1]. Накопленный опыт показывает, что имплантация эмбриона контролируется сигнальными цитокинами, факторами роста и молекулами адгезии. В синтез данных соединений вовлечены клетки эндометрия, трофобласта и эмбриобласта эмбриона, а также окружающие ооцит клетки кумулюса [2]. Клетки кумулюса формируют непосредственное окружение ооцита и постоянно реагируют на изменения, происходящие в интрафолликулярной среде. Основная функция клеток кумулюса – регуляция транспорта энергетических субстратов в ооцит за счет оптимизации соотношения лактата/пирувата и регуляции концентрации уровня глюкозы и глутамина [3–5]. Нарушения молекулярно-биологического профиля в клетках кумулюса могут выступать одной из причин субоптимального ответа яичников на стимуляцию в программах ВРТ. В исследовании С. Karakaya и соавт. (2015 г.) показано, что «бедный» ответ на стимуляцию функции яичников ассоциирован с повышением уровня экспрессии микроРНК-21-5p в клетках кумулюса пациенток, проходящих лечение бесплодия методом ВРТ [6].

По данным European IVF Monitoring Consortium (EIM), доля интрацитоплазматической инъекции сперматозоида (ИКСИ) в программах ВРТ в европейских странах составляет 65% от всех выполняемых процедур оплодотворения [7]. Несмотря на очевидные преимущества данного способа оплодотворения, стоит отметить, что результаты некоторых исследований показали более низкую частоту формирования стадии бластоцисты у эмбрионов, полученных с помощью методики ИКСИ, по сравнению с экстракорпоральным оплодотворением [5, 8]. Вероятно, это связано с тем, что в ходе проведения ИКСИ необходимо ферментативное удаление клеток кумулюса с поверхности ооцита, таким образом, положительное воздействие этих клеток на дальнейшее

развитие и качество эмбриона утрачивается. В нескольких исследованиях показана более высокая частота имплантации у пациентов при сокультивировании эмбриона на слое кумулюсных клеток и переносе эмбриона с небольшим количеством разреженных клеток кумулюса по сравнению с контрольной группой (25,6 и 14,5% соответственно) [9–11]. В исследовании Р. Quinn и соавт. также обнаружено, что сокультивирование эмбриона с аутологичными клетками кумулюса приводит к более высокой частоте формирования бластоцист по сравнению со стандартными методиками культивирования (45 и 31% соответственно) [12]. Положительное влияние аутологичных кумулюсных клеток на доимплантационный потенциал эмбриона осуществляется за счет образования трипептида глутатиона и сульфинового кислоты гипотаурина, которые нейтрализуют активные формы кислорода [13]. Кроме этого, клетки кумулюса образуют прогестерон, способствующий имплантации эмбриона.

Для более детального изучения механизмов влияния кумулюсных клеток на имплантационный потенциал эмбриона в исследовании М. Benkhalifa и соавт. (2012 г.) показано, что клетки кумулюса выступают экзогенным источником фактора ингибитора лейкозных клеток (LIF) и фактора активации рецепторов тромбоцитов (PAF-R) [14]. Данные ростовые факторы влияют на развитие эмбриона, бластуляцию, а также имплантацию бластоцисты за счет воздействия на фосфорилирование белков, включая тирозиную киназу фокальных адгезий, участвующую в имплантации эмбриона [15]. Кроме этого, результаты некоторых исследований показали, что у мышей, нокаутированных по гену LIF и PAF-R, происходит нарушение имплантации бластоцисты [16].

Результаты исследований показали, что сокультивирование эмбриона с аутологичными клетками кумулюса может быть особенно эффективно у пациенток с множественными неудачными попытками ВРТ в анамнезе [9, 10]. Перенос эмбриона в таких программах ВРТ рекомендовано

**Мakarova Natalia Petrovna** – д-р биол. наук, вед. науч. сотр. отд-ния вспомогательных технологий в лечении бесплодия им. проф. Б.В. Леонова ФГБУ «НМИЦ АГП им. акад. В.И. Кулакова». E-mail: np\_makarova@oparina4.ru; ORCID: 0000-0003-1396-7272

**Sysoeva Anastasiya Pavlovna** – эмбриолог отд-ния вспомогательных технологий в лечении бесплодия им. проф. Б.В. Леонова ФГБУ «НМИЦ АГП им. акад. В.И. Кулакова». E-mail: sysoeva.a.p@gmail.com; ORCID: 0000-0002-6502-4498

**Lobanova Natalia Nikolaevna** – мл. науч. сотр. отд-ния вспомогательных технологий в лечении бесплодия им. проф. Б.В. Леонова ФГБУ «НМИЦ АГП им. акад. В.И. Кулакова». E-mail: n\_lobanova@oparina4.ru; ORCID: 0000-0002-0818-4073

**Kalinina Elena Anatolyevna** – д-р мед. наук, проф., зав. отд-нием вспомогательных технологий в лечении бесплодия им. проф. Б.В. Леонова ФГБУ «НМИЦ АГП им. акад. В.И. Кулакова». E-mail: e\_kalinina@oparina4.ru; ORCID: 0000-0002-8922-2878

**Natalia P. Makarova** – D. Sci. (Biol.), Kulakov National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology. E-mail: np\_makarova@oparina4.ru; ORCID: 0000-0003-1396-7272

**Anastasiya P. Sysoeva** – embryologist, Kulakov National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology. E-mail: sysoeva.a.p@gmail.com; ORCID: 0000-0002-6502-4498

**Natalia N. Lobanova** – Res. Assist., Kulakov National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology. E-mail: n\_lobanova@oparina4.ru; ORCID: 0000-0002-0818-4073

**Elena A. Kalinina** – D. Sci. (Med.), Prof., Kulakov National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology. E-mail: e\_kalinina@oparina4.ru; ORCID: 0000-0002-8922-2878

осуществлять с помощью технологии САТ (*Cumulus-Aided embryo Transfer*), включающей в себя культивирование эмбриона на слое кумулюсных клеток и проведение переноса эмбриона с некоторым количеством разреженных клеток кумулюса [17].

Несмотря на то что факторы, регулирующие имплантацию бластоцисты, до конца не изучены, результаты исследований дают основание предполагать, что сокультивирование аутологичных клеток кумулюса с эмбрионами человека не только позволяет увеличить частоту наступления беременности и рождения здоровых детей, но и улучшает системы культивирования эмбрионов человека *in vitro* [9, 12, 14, 18, 19]. В настоящей работе описан клинический случай аутологичного сокультивирования эмбрионов с клетками кумулюса и новой технологии переноса САТ у пациентки с несколькими неудачными попытками ВРТ в анамнезе. Результатом оптимизации эмбриологического этапа стало рождение здорового ребенка у супружеской пары с длительным бесплодием.

### Описание клинического наблюдения

Пациентка Г., 38 лет, обратилась в отделение вспомогательных технологий в лечении бесплодия им. проф. Б.В. Леонова ФГБУ «НМИЦ АГП им. акад. В.И. Кулакова» Минздрава России с жалобами на отсутствие наступления беременности в течение 15 лет регулярной половой жизни без контрацепции. Из анамнеза: менструации с 15 лет, цикл регулярный, по 5 дней через 28 дней, без особенностей. Половая жизнь – с 15 лет, брак один. Супруг Г., 38 лет, соматически здоров, по данным спермограммы диагностирована тератозооспермия.

У пациентки в анамнезе были две самопроизвольные беременности, прерванные на малом сроке по социальным показаниям, без осложнений. В 2003 г. пациентке проведены лапароскопия, коагуляция очагов наружного генитального эндометриоза, по данным хромосальпингоскопии – левая маточная труба непроходима, выполнена гистероскопия с раздельным диагностическим выскабливанием. По данным гистологического исследования обнаружена простая гиперплазия эндометрия, назначен курс агониста (ГнРГ) в течение 6 мес. В 2007 г. были проведены повторная лапароскопия, сальпингоовариолизис, сальпингостомия с обеих сторон, коагуляция очагов наружного генитального эндометриоза, выполнены гистероскопия и раздельное диагностическое выскабливание, удален железисто-фиброзный полип эндометрия. В 2010 г. по данным гистеросальпингографии диагностирован двусторонний гидросальпинкс, проведены двусторонняя тубэктомия, а также удаление серозной цистаденомы правого яичника, послеоперационный период протекал без особенностей.

В 2011 г. пациентке по месту жительства была проведена первая программа ВРТ по протоколу с антагонистом ГнРГ (антГнРГ). Стимуляция функции яичников выполнялась препаратами рекомбинантного фолликулостимулирующего гормона (р-ФСГ), начиная с 3-го дня менструального цикла. На 14-й день менструального цикла выполнена трансвагинальная пункция яичников (ТВП), получено 5 ооцитов, оплодотворение проведено методом ИКСИ. На 5-е сутки после оплодотворения выполнен перенос одного эмбриона в полость матки, без эффекта. В 2013 и 2015 гг. проведены повторные программы ВРТ по месту жительства по протоколу с антГнРГ, стимуляция функции яичников осуществлялась человеческим менопаузальным гормоном в суммарной дозе 1150 и 1350 МЕ соответственно. При проведении ТВП аспирировано 8 и 6 ооци-

тов, в обеих программах ВРТ оплодотворение полученных ооцитов выполнено методом ИКСИ, перенос одного эмбриона в полость матки проведен на 5-е сутки культивирования, беременность не наступила ни в одной программе ВРТ.

Учитывая наличие трех неэффективных программ ВРТ, у пациентки старшего репродуктивного возраста после подписания информированного добровольного согласия было решено провести лечение бесплодия методом ВРТ с использованием аутологичного сокультивирования эмбрионов с клетками кумулюса и новой технологии переноса САТ по протоколу с антГнРГ. У пациентки по данным ультразвукового исследования органов малого таза и гормонального обследования был сохраненный овариальный резерв (антиюллеров гормон – 1,15 нг/мл, ФСГ – 6,9 нг/мл, количество антральных фолликулов в обоих яичниках – 8–9). Стимуляция функции яичников проводилась с 4-го дня менструального цикла с помощью препарата человеческого менопаузального гормона и р-ФСГ в суммарной дозе 1650 МЕ. За 36 ч до ТВП назначен хорионический гонадотропин в дозе 8000 ЕД для финального созревания ооцитов.

На 13-й день менструального цикла проведена ТВП, аспирировано 4 ооцита. Эмбриологический этап проводили на одноступенчатых культуральных средах CSCM (США). Подготовка клеток кумулюса к сокультивированию проводилась согласно методике, описанной в литературе [19], с модификациями, разработанными в ФГБУ «НМИЦ АГП им. акад. В.И. Кулакова» Минздрава России. После проведения оплодотворения методом ИКСИ ооциты были перенесены в культуральную среду CSCM. Спустя 14–16 ч в условиях эмбриологической лаборатории производилась оценка оплодотворения, которое считалось случившимся при появлении двух пронуклеусов и двух полярных телец. После 24 ч культивирования в среде клетки кумулюса превратились в фибробластоподобные клетки. Все этапы культивирования проводили в мультигазовых инкубаторах COOK (Австралия) в индивидуальных каплях по 25 мкл. В каждую каплю были добавлены клетки кумулюса, расчет их количества не проводился. Кумулюсные клетки занимали не более 1/4 капли. На 5-е сутки культивирования 2 эмбриона достигли стадии бластоцисты и соответствовали качеству 3АА и 3ВВ согласно классификации Gardner и соавт. Эмбрион отличного качества (3АА) был перенесен на 5-е сутки после оплодотворения с использованием новой технологии переноса САТ с небольшим количеством разреженных клеток кумулюса. Эмбрион среднего качества (3ВВ) был криоконсервирован на 5-е сутки культивирования. Поддержка посттрансферного периода осуществлялась с помощью микроинкубированного прогестерона в дозе 300 мг в сутки.

В результате проведенной программы ВРТ в стимулированном цикле наступила беременность. На 14-й день после переноса эмбриона уровень  $\beta$ -субъединицы хорионического гонадотропина человека составил 978 мМЕ/мл. В I триместре беременности пациентка была госпитализирована на сроке 12–13 нед с угрозой прерывания беременности, проводилась спазмолитическая, гемостатическая и гормональная терапия. Во II триместре беременности на сроке 19–20 нед проведена хирургическая коррекция истмико-цервикальной недостаточности путем наложения двух циркулярных швов на шейку матки. III триместр беременности протекал без особенностей, на сроке 38–39 нед беременности пациентка была родоразрешена путем операции кесарева сечения в связи с оболочечным прикреплением пуповины в области нижнего края плаценты и ухудшением состояния плода по данным доплерометрии. Родилась живая доношенная девочка, с оценкой по шкале Апгар 8/9 баллов, массой тела 3070 кг,

ростом 51 см, кровопотеря в родах составила 700 мл. На момент написания публикации ребенок соматически здоров, развивается соответственно возрасту.

### Заключение

Результаты многих исследований показали, что сокультивирование эмбриона с аутологичными клетками кумулюса повышает результативность программ ВРТ за счет положительного влияния кумулюсных клеток на процессы раннего эмбриогенеза и имплантацию эмбриона [9, 12, 14, 18, 19]. Данная методика исключает использование гетерогенных клеток, не подразумевает избыточные финансово-экономические затраты, а также не занимает у эмбриолога много времени.

Клетки кумулюса в процессе сокультивирования выделяют различные ростовые факторы (LIF, PAF-R, EGF и VEGF), а также гормоны (прогестерон) и цитокины. Кроме этого, клетки кумулюса стимулируют гликолиз, аминокислотный транспорт, биосинтез стеролов в развивающемся эмбрионе, а также имеют важное значение в цитоплазматическом созревании ооцита. Стоит подчеркнуть, что после оплодотворения зигота в течение первых 3 сут остается транскрипционно неактивной. Только на этапе материнско-зиготического перехода происходит активация зиготического генома с одновременной активацией и подавлением нескольких тысяч генов [20]. До активации зиготического генома поддержание необходимого уровня белков и транскриптов для оптимального метаболизма эмбриона осуществляется только благодаря генетическому аппарату ооцита. Показано, что сокультивирование оплодотворенного ооцита с аутологичными клетками кумулюса поддерживает его функционирование в раннем эмбриональном периоде за счет детоксикации среды культивирования и секреции эмбриотропных веществ [21, 22]. Описанный клинический случай, а также результаты исследований подтверждают актуальность использования аутологичного сокультивирования эмбрионов с клетками кумулюса в программах ВРТ у пациентки с несколькими неудачными попытками в анамнезе. Данная методика не только позволяет повысить способность оплодотворенных ооцитов к дальнейшему развитию в условиях *in vitro*, но и может стать достойной альтернативой для оптимизации системы культивирования эмбрионов человека в программах ВРТ.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Conflict of interests.** The authors declare no conflict of interest.

**Финансирование.** Работа выполнена в рамках финансирования государственного задания «Решение проблемы бесплодия в современных условиях путем разработки клинико-диагностической модели бесплодного брака и использования инновационных технологий в программах вспомогательной репродукции №121040600410-7».

**Financing.** The work was carried out with financing of the national research program “Solving the problem of infertility in modern conditions by developing a clinical and diagnostic model of infertility marriage and using innovative technologies in assisted reproduction programs №121040600410-7”.

### Литература/References

- Borgh MV, Wyns C. Fertility and infertility: Definition and epidemiology. *Clin Biochem*. 2018;62:2-10. DOI:10.1016/j.clinbiochem.2018.03.012
- Bongso A, Ng SC, Fong CY, Ratnam S. Cocultures: a new lead in embryo quality improvement for assisted reproduction. *Fertil Steril*. 1991;56(2):179-91. DOI:10.1016/s0015-0282(16)54468-9
- Сафронова Н.А., Калинина Е.А., Донников А.Е., и др. Перспективы исследования маркеров клеток кумулюса для оценки качества ооцитов и эмбрионов в программах вспомогательных репродуктивных технологий. *Акушерство и гинекология*. 2015;12:21-5 [Safronova NA, Kalinina EA, Donnikov AE, et al. Prospects for studying cumulus cell markers to assess the quality of oocytes and embryos in assisted reproductive technology programs. *Akusherstvo i ginekologiya*. 2015;12:21-5 (in Russian)].
- Ebert P, Völklein K. Choosing a culture medium: making informed choices. *Fertil Steril*. 2010;93(6):e25; author reply e26. DOI:10.1016/j.fertnstert.2009.12.048
- Ebner T, Moser M, Sommergruber M, et al. Incomplete denudation of oocytes prior to ICSI enhances embryo quality and blastocyst development. *Hum Reprod*. 2006;21(11):2972-7. DOI:10.1093/humrep/del272
- Karakaya C, Guzeloglu-Kayisli O, Uyar A, et al. Poor ovarian response in women undergoing in vitro fertilization is associated with altered microRNA expression in cumulus cells. *Fertil Steril*. 2015;103(6):1469-76.e1-3. DOI:10.1016/j.fertnstert.2015.02.035
- De Geyter C, Calhaz-Jorge C, Kupka MS, et al. ART in Europe, 2014: results generated from European registries by ESHRE: The European IVF-monitoring Consortium (EIM) for the European Society of Human Reproduction and Embryology (ESHRE). *Hum Reprod*. 2018;33(9):1586-1601. DOI:10.1093/humrep/dey242
- Van Landuyt L, De Vos A, Joris H, et al. Blastocyst formation in in vitro fertilization versus intracytoplasmic sperm injection cycles: influence of the fertilization procedure. *Fertil Steril*. 2005;83(5):1397-403. DOI:10.1016/j.fertnstert.2004.10.054
- Sapandorfer SD, Pascal P, Parks J, et al. Autologous endometrial coculture in patients with IVF failure: outcome of the first 1,030 case. *J Reprod Med*. 2004;49(6):463-7.
- Kattal N, Cohen J, Barmat LI. Role of coculture in human in vitro fertilization: a meta-analysis. *Fertil Steril*. 2008;90(4):1069-76. DOI:10.1016/j.fertnstert.2007.07.1349
- Eyheremendy V, Raffo FGE, Papayannis M, et al. Beneficial effect of autologous endometrial cell coculture in patients with repeated implantation failure. *Fertil Steril*. 2010;93(3):769-73. DOI:10.1016/j.fertnstert.2008.10.060
- Quinn P, Margalit R. Beneficial effect of coculture with cumulus cells on blastocyst formation in prospective trial with supernumerary human embryos. *J Assist Reprod Genet*. 1996;13(1):9-12. DOI:10.1007/BF02068862
- Асфарова Г.Р., Смольникова В.Ю., Макарова Н.П., и др. Аутологичное сокультивирование эмбрионов с клетками кумулюса в программах ВРТ. *Акушерство и гинекология*. 2018;11:10-4 [Asfarova GR, Smolnikova VYu, Makarova NP, et al. Autologous embryo-cumulus cell co-culturing in ART programs. *Akusherstvo i Ginekologiya*. 2018;11:10-4 (in Russian)]. DOI:10.18565/aig.2018.11.10-14
- Benkhalifa M, Demirol A, Sari T, et al. Autologous embryo-cumulus cells co-culture and blastocyst transfer in repeated implantation failures: a collaborative prospective randomized study. *Zygote*. 2012;20(2):173-80. DOI:10.1017/S0967199411000062
- Vendrell-Flotats M, García-Martínez T, Martínez-Rodero I, et al. In vitro maturation in the presence of Leukemia Inhibitory Factor modulates gene and miRNA expression in bovine oocytes and embryos. *Sci Rep*. 2020;10(1):17777. DOI:10.1038/s41598-020-74961-6
- Mo C, Chearwae W, Bright JJ. PPARγ regulates LIF-induced growth and self-renewal of mouse ES cells through Tyk2-Stat3 pathway. *Cell Signal*. 2010;22(3):495-500. DOI:10.1016/j.cellsig.2009.11.003
- Cihangir N, Görkemli H, Ozdemir S, et al. Influence of cumulus cell coculture and cumulusaided embryo transfer on embryonic development and pregnancy rates. *J Turk Ger Gynecol Assoc*. 2010;11(3):121-6. DOI:10.5152/jtgga.2010.017
- Levitas E, Lunenfeld E, Har-Vardi I, et al. Blastocyst-stage embryo transfer in patients who failed to conceive in three or more day 2-3 embryo transfer cycles: a prospective, randomised study. *Fertil Steril*. 2004;81(3):567-71. DOI:10.1016/j.fertnstert.2003.08.031

19. Parikh F, Nadkarni SG, Naik NJ, et al. Cumulus coculture and cumulus-aided embryo transfer increase pregnancy rates in patients undergoing in vitro fertilization. *Fertil Steril.* 2006;86(4):839-47. DOI:10.1016/j.fertnstert.2006.03.028
20. Тимофеева А.В., Калинина Е.А., Драпкина Ю.С., и др. Оценка качества эмбриона по профилю экспрессии малых некодирующих РНК в культуральной среде эмбриона в программах вспомогательных репродуктивных технологий. *Акушерство и гинекология.* 2019;6:79-86 [Timofeeva AV, Kalinina EA, Drapkina IuS, et al. Embryo quality assessment by the small noncoding RNA expression profile in an embryo culture medium in assisted reproductive technology programs. *Akusherstvo i Ginekologiya.* 2019;6:79-86 (in Russian)]. DOI:10.18565/aig.2019.6.79-86
21. Lin YH, Hwang JL, Seow KM, et al. Effects of growth factors and granulosa cell co-culture on in-vitro maturation of oocytes. *Reprod Biomed Online.* 2009;19(2):165-70. DOI:10.1016/s1472-6483(10)60068-5
22. Godard NM, Pukazhenti BS, Wildt DE, Comizzoli P. Paracrine factors from cumulus-enclosed oocytes ensure the successful maturation and fertilization in vitro denuded oocytes in the cat model. *Fertil Steril.* 2009;91(Suppl. 5):2051-60. DOI:10.1016/j.fertnstert.2008.05.069

Статья поступила в редакцию / The article received: 27.04.2021

Статья принята к печати / The article approved for publication: 24.06.2021



OMNIDOCTOR.RU